

Studies on glycolate metabolism in the brown alga *Spatoglossum pacificum*

著者	Iwamoto Koji
内容記述	Thesis (Ph. D. in Science)--University of Tsukuba, (B), no. 1322, 1997.10.31
発行年	1997
URL	http://hdl.handle.net/2241/6901

氏 名(本 籍)	岩 本 浩 二 (石 川 県)		
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)		
学 位 記 番 号	博 乙 第 1,322 号		
学位授与年月日	平 成 9 年 10 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審 査 研 究 科	生 物 科 学 研 究 科		
学 位 論 文 題 目	Studies on Glycolate Metabolism in the Brown Alga <i>Spatoglossum pacificum</i> (褐藻コモングサにおけるグルコール酸代謝に関する研究)		
主 査	筑波大学教授	理学博士	猪 川 倫 好
副 査	筑波大学教授	理学博士	井 上 勲
副 査	筑波大学教授	理学博士	小 熊 讓
副 査	筑波大学教授	農学博士	田 仲 可 昌

論 文 の 内 容 の 要 旨

光呼吸の初発過程であるリブロース-1, 5-ビスリン酸オキシゲナーゼ反応で生成するホスホグリコール酸は光合成を強く阻害し、この生成物の代謝は植物の生産性を大きく左右する。陸上植物とその系列にある緑藻では、ペルオキシソームに局在するグリコール酸オキシダーゼ (GOX) を鍵酵素とする代謝系により代謝され、一方、多くの緑藻やらん藻ではミトコンドリアに局在するグリコール酸デヒドロゲナーゼ (GDH) が関与する代謝系により代謝されることが知られ、GOX 系は植物の陸上化に伴って GDH 系から進化したものと推定されてきた。しかし、これらの藻類とは系統分類学的に異なる多様な藻類におけるグリコール酸代謝に関する研究は極めて少なく、まだ十分に明らかにされていない。

本論文は、系統的に多様な分類群からなる藻類についてグリコール酸代謝の鍵酵素であるグリコール酸の酸化酵素の分布の実態を明らかにし、特に、陸上植物と類似の GOX をもつ褐藻に注目し、コモングサを用いて GOX の酵素化学的諸性質並びにグリコール酸代謝経路を明らかにし、陸上植物の GOX 系と比較検討することによって、褐藻の GOX 系の起源についても考察することを目的としている。

第 1 章では、6 植物門 13 綱 58 種の藻類について、グリコール酸の酸化酵素の分布状況を調べ、GDH は緑色植物門の緑藻綱、ブラシノ藻綱、黄色植物門珪藻綱、紅色植物門の Eurhodophyceae およびクリプト植物門に属する藻類に分布し、一方、GOX は黄色植物門の褐藻綱、黄緑藻綱、黄金色藻綱、ラフィド藻綱、真正眼点藻綱、および紅色植物門のうち Archeorhodophyceae, Metarhodophyceae に属する藻類に分布し、GDH と GOX をともにもつ藻類はないこと、また、これらの酵素の分布は、生育環境や体制とは関係なく、綱の段階で分類群としてまとまりをもって分布していることを明らかにした。さらに、紅藻、珪藻およびブラシノ藻のうち *Mesostigma* と *Pterosperma* の GDH は、緑藻綱の GDH とは一部の性質が異なり GOX と類似の性質をもつことを見出し、GOX やグリコール酸代謝経路の進化を考える上で重要な知見をもたらした。

第 2 章では、緑色植物以外の系統的に全くかけ離れた藻類において系統的に綱以上のまとまりをもって広く分布する GOX の起源が一元的かあるいは多元的であるかを明らかにするため、褐藻コモングサの GOX を精製してその酵素化学的諸性質を明らかにし、陸上植物の GOX と比較検討した。解析の結果、本酵素はホロ酵素の分子量が 230,000 で、分子量 49,000 のサブユニットの四量体からなり、補欠分子として FMN をもち、等電点は 9.6、至適 pH は 8.3 で、基質特異性や種々の阻害剤に対する性質等酵素化学的諸性質が陸上植物の GOX と極めてよく類

似し、さらに、精製したハウレンソウの GOX との免疫学的反応性やコモングサ GOX タンパクの内部アミノ酸配列が陸上植物のそれと60%以上の相同性をもつことなどを明らかにし、両者の類似性が極めて高いことから、褐藻の GOX タンパクも陸上植物の GOX と同一の他の FMN 結合酵素タンパクを起源とすることを強く示唆した。

第3章では、褐藻におけるグリコール酸代謝に関連すると推定される諸酵素の検出とそれらの性質および細胞内局在を調べ、ホスホグリコール酸ホスファターゼ、GOX、アミノ酸-グリオキシル酸アミノ基転移酵素、セリン-ヒドロキシメチル基転移酵素、アミノ酸-ヒドロキシピルビン酸アミノ基転移酵素、ヒドロキシピルビン酸還元酵素およびカタラーゼが存在し、いずれも生体内で生成すると推定される量のグリコール酸を代謝するに十分な活性量が存在すること、および GOX は陸上植物と同様カタラーゼとともにペルオキシソームに、また、セリン-ヒドロキシメチル基転移酵素はミトコンドリアに局在することを明らかにした。これらの結果から、褐藻においても陸上植物と同様に葉緑体、ペルオキシソーム、ミトコンドリアの3つのオルガネラの協調によりグリコール酸がグリオキシル酸、グリシン、セリン、ヒドロキシピルビン酸を経てグリセリン酸へと代謝されることを明らかにした。

以上の結果より、従来の陸上植物と緑藻など一部の藻類で得られた結果に基づいて提唱されてきた GDH と GOX の関係、すなわち「藻類の進化の過程においてまず GDH が出現し、GOX および GOX が関与するグリコール酸代謝経路は植物の陸上化に関連して出現した」との仮説に対し、「GOX および GOX が関与するグリコール酸代謝経路は、植物の陸上化が始まる以前のかかなり早い段階において、酸素障害の防除機構の一つとして多元的に獲得された」との新たな仮説を立てている。

審 査 の 結 果 の 要 旨

大形藻類についての酵素や代謝に関する研究は、高等植物や単細胞藻類についての研究に比べ多くの困難を伴うため大きく立ち後れている。本論文は、まず実験方法の改善を図り、これを克服して多様な分類群に属する多種類の藻類についてグリコール酸の酸化酵素の分布を明らかにし、褐藻におけるグリコール酸オキシダーゼを大形藻類ではじめて単一タンパクとして精製し、それが関与するグリコール酸代謝経路を明らかにした。この成果は、植物の酸素障害耐性機構として重要な光呼吸の機構並びにその進化について重要な知見をもたらすとともに、大形藻類を用いた酵素化学的研究に道を開くものとして高く評価できる。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。